

金 沢 大 学 医 学 部 附 属  
神 經 情 報 研 究 施 設

業 績 集

(昭和61年度～平成元年度)

No. 5

Neuroinformation Research Institute  
School of Medicine, University of Kanazawa  
Quaternary Archives (1986~1989)

## 目 次

1. 巻頭のことば	1
2. 神経情報研究施設の目的と沿革	2
3. 情報伝達研究部門	
a. 人事関係	4
b. 研究テーマと内容の解説	6
c. 科学研究費	15
d. 発表論文目録	17
e. 学会及びシンポジウム発表演題目録	22
f. NIRI (伝達) セミナール演題目録	29
4. 神経物性研究部門	
a. 人事関係	30
b. 研究テーマと内容の解説	32
c. 科学研究費	41
d. 発表論文目録	44
e. 学会及びシンポジウム発表演題目録	47
f. セミナール演題目録	51
5. 金沢大学神経学研究会演題目録	52
付. 発表論文コピー	

## 1. 巻頭のことば

こゝに本研究施設の業績集5ができました。業績集は4年ごとにまとめておりますので、情報伝達研究部門が昭和45年4月に開設されてから、すでに20年を閲したことになります。その間、昭和51年12月に神経物性研究部門が増設され、中村俊雄教授（現名誉教授）を迎えましたが、御病気のため、昭和62年3月に退官されました。このことは誠に残念でした。しかし、昭和63年2月には東田陽博教授が神経物性研究部門に、本大学がん研究所薬理部門より着任され、細胞内伝達系の先端的な研究分野の実験を、間髪をいれず、精力的に開始されたことは喜ばしい限りです。

両研究部門とも正式スタッフは少人数ですが、とくに新規の神経物性研究部門には多数の専攻生や協力研究員が集まり、日夜を分かたず実験が進められております。発表論文の目録に見られるように、学際・国際的な研究成果を挙げてきていると自負する次第です。

今日、脳研究の重要性が強く叫ばれております。アメリカでは1990年代を「Decade of the Brain」として、脳研究を推進する法案にブッシュ大統領が承認を与えたと伝えられています。1995年には国際脳研究機構（IBRO）の総会が京都で開催されるとも聞きます。これらが我が国の神経科学研究者に強いインパクトを与えることは言をまちません。本研究施設においても、斬新な研究分野へと拍車をかける好機かと考えます。

研究設備もかなり整って来ました。本学部の多くの若い学究の情熱と努力が待たれる現況です。現在、第3部門として、神経薬理研究部門の早期設置を当局に申請はしておりますものの、定員増は到底望めそうもございません。今後、本研究施設の発展をどのように計ってゆくべきか、なにとぞ皆さまのご理解とご支援をお願い申し上げます。

平成2年4月

金沢大学医学部

神経情報研究施設長 根岸晃六

## 2. 神経情報研究施設の目的と沿革

神経系の機能は生体の示す機能のうちで、最も複雑かつ高次のもので、生体の内外からの刺激（情報）を各種感覚器で選択受容し、求心性の興奮（符号化された情報）として大脳中枢に伝え、中枢においては生体各部からの興奮を統合積分し、遠心性興奮として末梢に送り、効果器（筋および腺器官）の作用として具現され、生体の行動となる。このような神経情報処理機構を、生理、構造、生化学および薬理学の諸局面より総合的に把握究明し、人体機能の解明に資するとともに、人類の最終疾患と言われる精神神経疾患の理解と治療のための基礎研究を果たすことが本研究施設の目的である。

つとに本医学部においては、神経系に関する生理、薬理、形態、病理および臨床神経学的研究が盛んで、多年にわたり、幾多の業績が関係教室から発表されてきた。これら各教室の業績を相互に報告し、気楽に意見を交換しあうことによって、神経研究の一層の発展を期する目的で、秋元波留夫教授（精神神経科，東京都立松沢病院顧問）および岩間吉也教授（生理学，大阪大学名誉教授）を中心に、昭和30年（1955年）春、「電気生理学研究会」が発足した。この会は、ほんの数名の参加者で始められ、会合は不定期で記録は残されていない。

昭和34年（1959年）春、学内の有志が集まって定期的に会合を開くことを申しあわせ、「神経生理懇話会」と改称、さらに同年秋、この会で検討する対象の範囲を一層広くする趣旨のもとに、岩間吉也教授（前出）、本陣良平教授（解剖学，名誉教授，前金沢大学学長）、島藺安雄教授（神経精神科，国立精神・神経センター名誉総長）、梶川欽一郎助教授（病理学，名誉教授，前福井医科大学学長）、小林敏男助教授（放射線科，前信州大学教授）、米村大蔵助教授（眼科，名誉教授）、山本信二郎講師（脳神経外科，名誉教授）、および大塚良作助教授（神経科精神科，前教授，故人）が発起人となり、該懇話会を「神経学研究会」と改称し、月2回の例会を持つようになった。このような趨勢に呼応して、とくに生体情報機構の解明という新しい医学的立場から神経・脳研究の態勢を総合的に備えようという気運が盛り上がり、当時の医学部長倉知与志教授（眼科，故人）、および大村裕教授（生理学，九州大学名誉教授）が中心になって、「神経情報研究施設」の設置を、昭和40、41年の2度にわたって文部省に申請、昭和42年6月1日当局の認可を得る運

びとなった。ちなみに神経学研究会は、昭和62年1月28日（第 222 回）より本研究施設が担当し、245 回に及んでいる（5. 演題目録参照）。本会に参加して発表をおこなった教室は、解剖、生理、生化学、衛生学、外科、脳神経外科、内科、眼科、皮膚科、耳鼻科、放射線科、核医学、小児科、泌尿器科、神経情報研究施設などで、学内の過半数の教室から多数の人々が討議に加わってきた。

神経情報研究施設長は医学部教授会で承認され、次の諸教授がその任にあたってきた。

1. 石川大刀雄教授（病理学，故人）併任，昭和42年6月1日～同43年3月31日。
2. 卜部美代志教授（外科学，故人）併任，昭和43年4月1日～同45年3月31日。
3. 倉知与志教授（眼科学，故人）併任，昭和45年4月1日～同46年3月31日。
4. 本陣良平教授（解剖学）併任，昭和46年4月1日～同56年3月31日。
5. 根岸晃六教授（神経情報研）併任，昭和56年4月1日～同60年3月31日。
6. 本陣良平教授（解剖学）併任，昭和60年4月1日～同60年9月21日。

本陣教授は金沢大学学長に就任し、その後、医学部長西田尚紀教授が昭和61年3月31日まで施設長事務取扱代行。

7. 根岸晃六教授（神経情報研）併任，昭和61年4月1日より。

### 3. 情報伝達研究部門

#### a. 人事関係

昭和62年4月1日、島田洋一教授（金沢工大），協力研究員に（平成元年3月31日まで）。

昭和62年5月28日～6月11日、根岸晃六教授海外出張。内藤記念科学振興財団学者派遣助成。第11回国際神経化学会議（ラグアイア，ベネズエラ）及びサテライトシンポジウム（カラカス，ベネズエラ；招待）に出席発表。

昭和62年8月3日～9月10日、根岸教授海外出張。国際協力事業団，専門家の派遣「ベネズエラ国立科学研究所における神経生理学の技術指導」（カラカス，ベネズエラ）。

昭和63年6月10日～25日、根岸教授海外出張。日本学術振興会国際共同研究「魚類網膜に固有なポリペプチドの機能的役割」，カルガリ大・医・解剖学教室（カルガリ，カナダ）にて滞在研究。

昭和63年8月6日～8月20日、根岸教授海外出張。山田科学振興財団海外派遣助成。NATO ワークショップ「網膜内層の神経生物学」（オルデンバァーグ，西独）に出席発表（招待）。

昭和63年9月3日～9月22日、根岸教授海外出張。文部省国際研究集会派遣。第8回国際眼研究会議（サンフランシスコ），サテライトシンポジウム「網膜の発達と再生」（バンフ，カナダ；招待）に出席発表，次いでカルガリ大学・医・解剖学教室（カルガリ）を訪問。

平成元年3月2日～25日、加藤 聖助教授海外出張。日本学術振興会国際共同研究，カルガリ大・医・解剖学教室（カルガリ，カナダ）にて滞在研究。

平成元年3月29日～4月22日、根岸教授海外出張。日本学術振興会国際共同研究，カルガリ大・医・解剖学教室（カルガリ，カナダ）にて滞在研究。

平成元年8月24日～9月2日、根岸教授海外出張。国際シンポジウム「魚類の視覚」，（国際海洋研究センター，オリスタノ，サルジニア島，イタリア）に出席発表（招待）。

平成元年9月3日～10月25日。根岸教授海外出張。日本学術振興会国際共同研究，カルガリ大・医・解剖学教室（カルガリ，カナダ）にて滞在研究。

平成2年3月2日～16日。加藤助教授海外出張。日本学術振興会国際共同研究，カルガリ大・医・解剖学教室（カルガリ，カナダ）にて滞在研究。

#### 現教室関係者（平成2年4月1日現在）

教授	根岸晃六	金沢医大，昭27年卒，医博
助教授	加藤聖	金沢大学・医，昭48年卒，医博
助手	菅原清	北大・理・生物大学院，昭43年卒，理博
技官	寺西經信	中央大・理・工学，昭40年卒，医博
技術補佐員	浦野たみ	

大学院生	品川靖子	香川医大，平2年卒
専修生	石田外樹	東邦大・薬，昭59年卒

#### 非常勤講師

昭和61年度：船越正也（朝日大・歯・口腔生理・教授）

昭和62年度：丸山直滋（新潟大・脳研生理・教授）  
大村裕（九大・医・生理・教授）

昭和63年度：伊藤博信（日本医大・解剖・教授）

平成元年度：横田敏勝（滋賀医大・生理・教授）

## b. 研究テーマと内容の解説

伝達研究部門では主として魚類網膜を実験材料として使用しているが、網膜は発生的にも細胞構築の点でも大脳組織と同質であり、剥離した網膜は 250 ミクロンに満たない、完全な形の脳の薄切片とも云える。網膜の構成細胞は大別して6種で、整然とした層構造を呈して配列しており、しかも個々の細胞要素からの細胞内記録が成功し、どのような光応答電位を発生しているかが判っている。脳で見出されるシナプス伝達・修飾物質の殆どが、網膜の各種細胞、とくにアマクリン細胞亜種に見出されている。構成細胞が綺麗な層構造を呈している脳部位としては大脳皮質、小脳皮質、海馬、膝状体など多数が存在するが、薄切片として取り扱う場合、それらは完全な形とは云えない。したがって、剥離網膜はもっとも優れた、またもっともアプローチし易い脳の一部と云える。刺激には光という自然界での適当刺激が使用できることも大きな利点である。

過去4年間、多岐に亘る技術を駆使して実験を進めてきたが、次の研究テーマのもとに、成果の内容を解説する。しかし、詳細については、文献を参照して頂きたい。

### ① 明暗調に伴う魚類網膜水平細胞のスペクトル光応答型の変化 (根岸)

大名サギ (海産魚, *Eugerres plumieri*) の網膜からは6種のスペクトル光応答型が記録できることは古くから知られている (Svaetichin, 1956; Laufer and Millian, 1971)。しかし、水平細胞は形態的に4種が区別されているに過ぎない (Parthe, 1981, 1982)。そこで、それぞれの反応型の起源細胞を確認する目的で、ルシファ黄 (LY) 封入のガラス微小電極により、十分に暗調した大名サギより網膜を剥離し、それぞれの反応型を記録し、その細胞に電気泳動的に LY を注入し、蛍光顕微鏡により細胞型を判定した。実験は剥離網膜標本上で照度 1.2 Luxの薄暗い部屋で施行した。記録開始直後ではスペクトル光応答最大振幅峯が緑帯 ( $\lambda_{max}=550$  nm) にある Lg1 型、Lg2 型と青帯 ( $\lambda_{max}=516$  nm) にある Lb 型及び桿体系の sL 型のルミノシティ (L) 型の4種が記録できるが、1・2時間の実験経過後では、次第に赤帯 ( $\lambda_{max}=605$  nm) に峯を持つ Lr 型とクロマティシイ (C; R/G)



型の記録できる頻度が増加した。LY 注入でマークしたそれぞれの起源細胞は、Lg1 と Lr 型は H1 または H2 水平細胞であり、Lg2, Lb 及び C 型はすべて H3 細胞、sL 型は最内側に位する桿体系水平細胞であった。

そこで、1 種のスペクトル応答型を記録しつつ、実験室天井の蛍光灯を点灯することで、網膜標本を 1～2 分間照射 (460 Lux) し、そのスペクトル応答型に及ぼす影響を調べた。その結果、Lg1 型は Lr 型に、Lg2 と Lb 型は C 型に容易に変化した。sL 型は白色光照射後には振幅を非常に減弱した。暗い部屋に網膜を静置しておく、反応型は白色光照射前の型に戻る傾向を示した。

以上の所見より、H1 と H2 水平細胞は暗調時に Lg1 型、明調時に Lr 型を発し、H3 細胞は暗で Lg2 または Lb 型を発するが、それらは明調により C (R/G) 型に変容することが判明した。これらのスペクトル応答型の明暗調に伴う変容は、恐らく、水平細胞樹状突起棘部 (水平細胞から錐体へのフィードバックに関与すると推定されている) の明暗調に伴う伸縮 (Weiler and Wagner, 1984; Djamgozら, 1985) に起因するのであろう。

なお、この実験では大名サギ網膜の H1 水平細胞のみが短軸索を有し、他は無軸索であるという、鯉や金魚の水平細胞とは異なる形態が明らかになり、また、色素結合が H1 水平細胞間では生じないが、他の水平細胞層では見られた。ドーパミンの灌流液経由の投与により、色素結合は遮断されるが、上記スペクトル応答型の峯推移は生起することができなかった。白色光の照射効果は、スペクトル応答型の峯推移に関する限り、ドーパミンの作用とは異なると考えられた。

## ② 鯉網膜のドーパミン性 (DA) 網状層間 (IP) 細胞の樹状突起形態の成長に伴う変化 (寺西, 根岸)

過去数年に亘り、蛍光組織化学法により DA-IP 細胞の分布と密度の変化を、教室で開発した網膜全伸展標本を用いて、成長との関連において精査してきた。魚類網膜は、多くの脊椎動物の胎生期におけると同様に、組織の拡大と辺縁からの新生細胞の付加という 2 つの現象で、生きている限り成長を持続するという事実を、DA-IP 細胞を指標として如実に証明してきた。しかし、この組織化学法では、個々の IP 細胞の樹状突起の形態は全く判らなかつた。新たに開発された、抗タイロシン・

ヒドロキラーゼ抗体を用いての免疫組織化学法でも、すべての細胞が同時に検出されてくるので、個々の細胞の形態は把握できない。

そこで、従来の蛍光組織化学法を用い、固定液中のグルタルアルデヒドの濃度を僅か 0.5% に抑え、固定時間を 15 分に短縮して、全伸展標本を作製、ドーパミン・グルタルアルデヒド結合体の緑色の蛍光を発する IP 細胞体を、蛍光顕微鏡下に観察しつつ、その胞体にルシファ黄 (LY; 蛍光物質) を封入したガラス微小電極尖を刺入、電気泳動的に LY を胞体に注入するという方式で、個々の IP 細胞の、内網状層に分枝する樹状突起形態を明確にし得た。

前述のように、網膜辺縁は芽細胞が終生存在し、それから網膜細胞は絶えず新生されており、従ってそこでは胞体は小さく、密度が非常に高い。成熟した鯉 (体長 30 cm) の全伸展標本において、辺縁からの距離と、LY で明確にした IP 細胞の樹状突起野の大きさを相関付けることができた。このことは、一板の網膜のなかで、辺縁から中央部に向けて、IP 細胞がどのように成長してゆくかを示すものである。

### ③ 魚類網膜再生過程の組織化学及びチミジン・オートラジオグラフ法による観察 (根岸, 寺西)

鯉及び金魚の眼球内に、多量の 6-OHDA を投与し、1・2ヶ月後に摘眼し、網膜をアルデヒド (FGS) 液で固定して全伸展標本で観察すると、却って DA 細胞が群生して観察されるという、逆説的な結果に遭遇した。その理由を探る目的で、神経毒 (6-OHDA, 5,6-DHT, カイニン酸) 及び代謝毒 (ウワバイン) を眼球内に投与し、神経性網膜の部分または全面的破壊を生起し、それからの再生過程を経時的 (10日～6ヶ月) に、DA 蛍光組織化学、チロシン・ヒドロキシラーゼ (TH) 免疫組織化学及びチミジン・オートラジオグラフ法を併用して精査した。網膜細胞要素の上記毒素による破壊が刺激となり、外顆粒層 (ONL) に存在する桿体前駆細胞が直ちに分裂を開始、神経網膜層に向って移動し、細胞欠損部を補修すると考えられる経過が観察できた。恐らく、分裂を開始した桿体前駆細胞から、DA 細胞を含む、あらゆる細胞種が新生されてくるのであろう。桿体前駆細胞の群生分裂の程度は、神経網膜の破壊が大きければ大きいほど、強烈に惹起され、約1ヶ月間に亘って持続した。再生された網膜構築はやゝ不規則で、DA 細胞体は、外網状層、内顆粒層や節細胞

層など、いろいろ異所的に存在することが見出された。

#### ④ 免疫組織化学的研究 (根岸, 寺西)

##### イ) 網膜内プロテインキナーゼC (PKC) の局在

近年, 細胞内情報系に關与する酵素として PKC が重要であることが指摘されてきた (Nishizuka, 1984)。抗 PKC 抗体を直ちに数種の脊椎動物 (魚類を含む) の網膜に応用し, 殆どの動物で, 桿体双極細胞 (光応答は恐らく中心オン型) と DA-IP 細胞が, その免疫陽性反応を示すことを初めて見出した。

##### ロ) カワヤツメ網膜における錐体様及び桿体様視細胞の検出

カワヤツメの視細胞は桿体様のも一種であるという説と, 錐体様のも一種であるという説が長い間続いてきた (Ohman, 1976)。つまり, 形態的には長短2種の視細胞が区別できるが, 電頭的には2種の視細胞は同様な構造を呈し, 錐体とも桿体とも同定できなかった。本学ががん研薬理で精製した, ビジニン (Vis; 錐体に特異に存在する) とオプシン (Ops; 桿体に特異的) の抗体を用いた免疫組織化学的検索をカワヤツメ網膜に施行した。長視細胞は Vis 様反応を, 短視細胞は Ops 様反応を別々に呈することを見出した。この知見はカワヤツメ網膜の視細胞には, 明らかに2種, 錐体様と桿体様のものがあることを初めて実証したことになる。

##### ハ) 鯉網膜細胞による 5,7-ジヒドロキシトリプタミン (5,7-DHT) の取り込みの経時的変化

猫の網膜において, DA と 5,7-DHT を同時に眼球内に投与すると, DA-IP 細胞は DA とともに 5,7-DHT をも取り込み, 5,7-DHT は UV フィルター観察下に青色の自家蛍光を発するので, DA 細胞が生きている網膜標本で観察できるという (Dacey, 1988)。もし, 鯉網膜で同じように DA 細胞が 5,7-DHT を取り込むならば, DA 細胞からの光応答の記録が可能とある。この目的で, 種々な量の DA と 5,7-DHT の混合液を眼球内に投与し, 5,7-DHT を取り込んだ細胞をセロトニン免疫組織化学法により, 経時的に検出したが, DA 細胞が 5,7-DHT を取り込むという論拠は得られなかった。眼球内に投与した 5,7-DHT は2時間後に大型のアマクリン (インドー

ルアミン) 細胞に, 4 時間後には小型のアマクリン細胞に, 6~8 時間後には錐体系オプ型双極細胞に, そして 12 時間後に視細胞にと, 順次取り込まれ, 24 時間後にはセロトニン免疫反応は網膜から殆ど消失した。

⑤ ルシファ黄 (LY) 細胞内注入によるアマクリン細胞の樹状突起形態と突起間接触 (寺西, 根岸)

前述したように LY 細胞内注入法は, 個々の細胞の形態を知る上に非常に有効な方法である。古典的なゴルジ法では, 同様な形態を示す細胞を, まとめて論ずるためには, 永年の努力で収集してゆく必要があるが, LY 注入法では, 同性質 (例えば同一の光応答を発するとか, 前述のようにドーパミンを内在するという同一カテゴリー) の細胞を選択して, 短期日の内に検出してゆくことができる。

イ) 間質性 (ISA) アマクリン細胞

DAPI (蛍光物質) を眼球内に注射し, 翌日その眼球を摘出, 網膜を剥離して短時ホルマリン固定し, 全伸展標本を作る。それを蛍光顕微鏡 (UV フィルター) 下に観察すると, 非選択的に, 多数のアマクリン及び節細胞が DAPI を取り込み, その核が青い蛍光を発して見える。顕微鏡の焦点を調節すると, 内網状層 (IPL) に散在する, 所謂, 間質性アマクリン (ISA) 細胞の大きめの核を単離して視野に収めることができた。それに向けて, LY 封入電極尖を刺入して, LY を注入すると, IPL 亜層 b に分枝する樹状突起形態が浮き上がってきた。隣接するもう 1 個の ISA 細胞を LY で同様に検出すると, 2 つの細胞からの樹状突起が互いに, いかに接触しているかが判る。先端・先端間接触様式が圧倒的に多数で, IPL 内の 1 つのレベルで大小さまざまな線維網を形成していることを見出した。これまで, 記述されたことのない樹状突起間連絡である。これらの ISA 細胞の形態は, まさしく Fnb 型で, 光応答は中心オン型であった。

ロ) Fna 型アマクリン細胞

DAPI を取り込んで見出せる ISA 細胞核は比較的大型でやゝ楕円形をしていた。それと同じような核を, DAPI を取り込んだアマクリン細胞の密集する細胞層で見出

すことは至難の業であった。多亜種のアマクリン細胞を LY で染め出すという失敗を重ねたものの、隣接していると思われる同一の Fna 型アマクリン細胞2個を、同一標本で継時的に LY で検出することができた。ISA 細胞で見られたと同様に、Fna 型アマクリン細胞の樹状突起も、先端・先端間の接触様式が IPL 亜層 a に多数見出された。この Fna 型アマクリン細胞の光応答型は中心オフ型であるので、ISA (Fnb 型) 細胞の中心オン型と組んで、一連の機能系を構成していると考えられた。

#### ハ) Fnd 型アマクリン細胞

これまでの研究で、一過性オン・オフ光応答を発する Fnd 型アマクリン細胞は、電気生理学的にもっとも効率よく記録できるアマクリン細胞亜種である。しかも、その細胞に LY を注入すると、隣接した同種細胞に LY が拡散し、所謂色素結合を示すことが判っていた。そこで、電気生理学的に、光応答から同定した Fnd 型アマクリン細胞を含む網膜を短時間アルデヒド液で固定し、全伸展標本を作れば、LY を注入した強い蛍光を発する Fnd 型細胞を中心に、数個の色素結合を示し、淡く光る同種細胞が観察できる。その色素結合を示す細胞の1個に、改めて LY を注入すれば、隣接する Fnd 型細胞同志の樹状突起間の結合様式が、前記の ISA 及び Fna 型アマクリン細胞の場合と同じように明確になる筈である。Fnd 型細胞は、IPL 亜層 a と b の両者に樹状突起を伸ばしているが、その両亜層において、樹状突起は先端・先端間で見事に接触しており、それぞれのレベルで線維網を形成しているのが判った。

以上3種のアマクリン細胞の樹状突起間の接触は殆どが先端・先端様式であることから、この様式は、多くの同質性アマクリン細胞間の連絡に関与しているのかも知れない。しかも、Fnd 型アマクリン細胞では色素結合が見られたので、ギャップ結合が先端・先端接触部に存在する可能性が強い。ISA (Fnb 型) と Fna 型アマクリン細胞間には色素結合は証明できなかった。今後、これらの樹状突起間接触が、ギャップ結合か、化学的シナプスか、または単なるアポジション (近接) なのか、電顕的に調べてゆく必要がある。

## 二) DA-IP 細胞

前述のようにドーパミン細胞体の検出は容易である。そこで隣接する2個のIP細胞にLYを注入して、上記細胞と同様に樹状突起間の接触を調べた。IP細胞もIPL亜層aとbに突起を分枝伸展しているが、先端・先端間接触を見出すことは困難であった。多数の細い樹状突起が錯雑に混じて絡み合っていて、結論は得られなかったが、IP細胞同志の接触はかなり少ないのではないかと印象付けられた。DA-IP細胞の樹状突起間接触の様式は前3者のアマクリン細胞のそれとは大きく相異していると考えられる。

## ⑥ 抗PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 抗体の網膜研究への応用： 成長と再生過程の観察 (根岸, 寺西)

PCNA (Miyachi *et al.*, 1978) は分裂しつつある細胞の核内に作られる特異な蛋白質で、DNAポリメラーゼ・デルタの補酵素であり (Bravo & Celis, 1980), サイクリンとも呼ばれてきた (Almendral *et al.*, 1987)。PCNAはループス (lupus) 患者の血清中に含まれる抗体を用いて免疫組織化学的に、すべての動物組織で検出できるとされている。しかし、これまで神経系組織への応用は皆無であった。従来、専らチミジン・オートラジオグラフ法により、分裂中の細胞を検出してきたのであるが、PCNAは分裂しつつある細胞の内因性マーカーとして使用できる。こゝに着目して、PCNA免疫組織化学的検出法を、網膜の発生、細胞分化と発育、さらに再生過程の観察に用いた。

この実験には、イ) メダカ、鯉及び金魚の卵生期より孵化後2週間に亘って、PCNA陽性細胞の漸減と消褪が、網膜細胞の発達と分化過程と一致することを、他の免疫陽性細胞 (ポリペプチド, チロシン・ハイドロキシラーゼ, セロトニンなど) との同時染色法で明確にできた。ロ) 幼若な金魚と鯉を用い、6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA), カイニン酸やウワバインなどの毒物の眼球内投与により、神経性網膜を部分的または全面的に破壊し、それからの網膜再生の経過を、2・3ヶ月に亘って、PCNAとその他の免疫陽性細胞との二重染色法により精査した。破壊後、4・5日で、PCNA陽性細胞多数がパッチ状に出現し、約1ヶ月持続して、次第に細胞を減少した。PCNA陽性細胞の消長は網膜の再生経過を反映していると思われる。無

処理の魚の網膜では、PCNA陽性細胞は外顆粒層に点在し、桿体前駆細胞（正常には桿体のみに分化する）と呼ばれているが、それらが神経性網膜の破壊が刺激となり、急速に分裂を開始、しかも内網状層に移動して網膜再生に関与すると考えられる。さらに、全伸展標本により、毒物投与後の PCNA 陽性細胞密度の経時的変化を統計的に処理しているが、理由は判らないものの、投与側・非投与側において外顆粒層での PCNA 陽性細胞数が7～30日に亘って著しく増加し、45日目頃から次第に減少し、投与後2ヶ月頃より、非投与魚の網膜とほぼ同様な細胞数を示すようになった。一体、いかなる化学因子が PCNA 陽性細胞数の変動に関与しているのであろうか、今後の興味ある問題である。

#### ⑦ 網膜ドーパミン細胞からのドーパミン放出機構に関する研究（加藤，石田）

ドーパミン細胞からのドーパミンの放出を調べたところ、GABA がその放出を抑制していることが判明した。また、GABA 拮抗剤であるビククリンによって有意に放出が促進された。そのメカニズムは脱抑制によることが単離細胞分画を用いて初めて明らかにされた。次に、ドーパミン放出の細胞下機構を探る目的でプロテインキナーゼC (PKC) 賦活剤である TPA, OAG を添加したところ、ドーパミンの放出が有意に促進され、ドーパミンの放出に PKC 系の関与が強く示唆された。現在、リン酸化基質の検索を行なっている。

#### ⑧ グルタミン酸の細胞毒性に関する研究（加藤）

グルタミン酸により神経細胞やグリア細胞の破壊が起こることが良く知られている。そこで培養クローン化細胞（グリオーマ・ニューロblastoma細胞等々）を用い、その細胞毒性発症のメカニズムについて生化学的・細胞生物学的アプローチを試みている。

#### ⑨ 網膜内の神経並びにグリア細胞の機能・形態に及ぼす $\alpha$ -アミノアジピン酸の毒性について（菅原，加藤）

$\alpha$ -アミノアジピン酸 ( $\alpha$ -AAA) は生体内在性の、グルタミン酸類似物質である

が、中枢神経系のグリア細胞に特異的に変性・破壊をひき起すとされている。そこで、鯉の眼球内へ $\alpha$ -AAAを投与し、網膜に対する毒性効果とその可逆性を形態学的・電気生理学的に調べた。ミュラー細胞の膨潤化が、L-, DL-型  $8\mu\text{mol}$  投与後1~2日にみられ、また過剰投与ではミュラー細胞破壊と内網状層の空胞化がみられた。これらは2~4週間で修復されるが一度損傷を受けた層の厚みは減少する。L-型で最も毒性が強くD-型は殆ど無効であった。ニューロン機能に対しては、すべての型の $\alpha$ -AAAにより水平細胞が過分極し光応答(S-電位)は消失、また神経節細胞のインパルス応答も消失した。これらからの回復は水平細胞で1~2日と最も早く、節細胞の光応答性ではD-, DL-型の順で遅くなり(2週間以内)、L-型では回復不能であった。これらの事実から $\alpha$ -AAAはL-, DL-型はともに一過性のグリア毒性を、またL-型は節細胞に対する神経毒性を合わせ持つことが判明した。



c. 科学研究費

昭和 61 年度

根岸晃六（代表）：文部省科学研究費補助（190万円），一般研究（C）  
「含有伝達物質の同定された網膜アマクリン細胞の光応答と形態」  
（課題番号 61570064）

加藤 聖（代表）：文部省科学研究費補助（150万円），特定研究（2）  
「Cキナーゼの神経網膜における機能的役割について」  
（課題番号 61215014）

昭和 61 年度 ～ 62 年度

加藤 聖（代表）：文部省科学研究費補助（410万円），一般研究（B）  
「中枢神経系グリア細胞の機能的意義に関する研究」（課題番号 61480105）

加藤 聖（代表）：文部省科学研究費補助（250万円），試験研究（2）  
「汎用マイコンに直結せる簡易型画像解析装置の試作」  
（課題番号 61870002）

昭和 61 年度 ～ 平成元年度

根岸晃六：高岡城南病院（院長石黒順吉）学術研究費助成（240万円）

昭和 62 年度

加藤 聖（分担）：文部省科学研究費補助（130万円），特定研究（2）  
「カルシウムイオンと細胞機能」，栗山班（課題番号 62105008）

昭和 62 年度 ～ 63 年度

根岸晃六（分担）：文部省科学研究費補助（310万円），特定研究「神経回路網の可塑性」，第3（津本）班，魚類網膜の色光情報処理機構における可塑性の研究（課題番号 62221014）

昭和 63 年度 ～ 平成元年度

根岸晃六（代表）：文部省科学研究費補助（540万円），総合研究（A）  
「網膜における色情報抽出の神経機構：基礎と臨床の接点を求めて」  
（課題番号 63304031）

根岸晃六（代表）：日本学術振興会国際共同研究（540万円），「魚類網膜  
に固有なポリペプチドの機能的役割」，カナダ，カルガリ大学，医，解剖学教  
室（カルガリ）

平成元年度

根岸晃六（代表）：文部省科学研究費補助（260万円），総合研究（B）  
「網膜機能の細胞及び分子生物学的解析」（課題番号 01308011）

根岸晃六（分担）：文部省科学研究費補助（53.5万円），総合研究（A）  
「脊椎動物における視覚情報処理過程の形態学的研究」（班長，廣澤一成），  
魚類網膜アマクリン細胞の光応答，形態と神経活性物質の相関  
（課題番号 01304026）

加藤 聖（代表）：文部省科学研究費補助（160万円），重点研究（2）  
「中枢神経系伝達物質のカルシウム依存性並びに非依存性放出の細胞下機構」  
（課題番号 01659506）

d. 発表論文目録

1. 寺西經信 (1985) 鯉網膜桿体系水平細胞に及ぼすドーパミンの影響. 藤田学園医誌 9: 301-305
2. 寺西經信 (1985) 鯉網膜紡錘型アマクリン細胞の軸索様突起. 藤田学園医誌 9: 335-339
3. 三木直正, 加藤 聖 (1986) 網膜光応答と環状ヌクレオチド. 続生化学実験講座 7, 情報伝達と細胞応答(下), 日本生化学会編, 東京化学同人, 東京: 頁 836-846
4. 加藤 聖, 石田外樹, 根岸晃六 (1986) 培養 C6 グリオーマ細胞におけるグルタミン代謝について. 第29回日本神経化学会, 岡山 (昭61, 10, 30-11); 神経化学 25: 469-471
5. Teranishi, T. and Negishi, K. (1986) Dendritic morphology of dopaminergic cells revealed by intracellular injection of Lucifer yellow in fixed carp retina. Brain Res. 370: 196-199
6. Negishi, K., Kiyama, H., Kato, S., Teranishi, T., Hatakenaka, S., Katayama, Y., Miki, N. and Tohyama, M. (1986) An immunohistochemical study on the river lamprey retina. Brain Res. 362: 389-393
7. Teranishi, T., Negishi, K. and Kato, S. (1987) Functional and morphological correlates of amacrine cells in carp retina. Neuroscience 20: 935-950
8. Negishi, K., Teranishi, T., Kato, S. and Nakamura, Y. (1987) Paradoxical induction of dopaminergic cells following intravitreal injection of high doses of hydroxydopamine in juvenile carp retina. Dev. Brain Res. 33: 67-79
9. Teranishi, T., Negishi, K., Hidaka, S. and Naka, K.-I. (1987) Dendritic morphology of indoleamine cells revealed by intracellular injection of Lucifer yellow in fixed carp retina. Neuroscience 22: 323-329

10. Tanii, H., Kato, S. and Hashimoto, K. (1987) Inhibition of neurite outgrowth from retinal explant culture by acrylamide and related compounds. Seminars of Toxicity Mechanisms 1: 117-124
11. Negishi, K., Teranishi, T., Kuo, C.-H. and Miki, N. (1987) Two types of lamprey retina photoreceptors immunoreactive to rod- or cone-specific antibodies. Vision Res. 27: 1237-1241
12. 寺西經信 (1987) 鯉網膜水平細胞とドーパミン性網状層間細胞の形態と機能. 藤田学園医誌, 臨時増刊, 学位論文集 6: 225-264
13. 根岸晃六 (1987) 網膜研究における新しい動向と対策. 21世紀へ向けての医学と医療 (森 亘 編), 第10巻: 医学研究の動向, 本間三郎編, 第2章第3節: 脳研究とその研究体制, 日本評論社, 東京: 132-139
14. 島田洋一, 加藤 聖, 根岸晃六, 秩父志行 (1987) パソコンを用いた顕微鏡画像処理システム(2), 電子情報通信学会誌 MBE86-100: 45-52
15. 島田洋一, 堀川浩平, 角倉敏彦, 加藤 聖, 根岸晃六 (1988) 培養神経細胞における形態と機能の関連性解析システムの開発, 電子情報通信学会誌 MBE 88-20: 71-74
16. 根岸晃六, 加藤 聖, 寺西經信, 菅原 清 (1988) 魚類網膜の色光情報処理機構における可塑性の研究, 文部省特定研究「神経回路網の可塑性」, 報告書(2): 75-76
17. 根岸晃六 (1988) 網膜情報処理機構の研究, とくにアマクリン細胞の構築と機能について, 内藤記念科学振興財団研究報告書昭和62年度版: 226-228
18. 根岸晃六 (1988) 魚類網膜のドーパミン性網状層間細胞: ドーパミンは多様な調節を営む, 医学のあゆみ 144: 550
19. 加藤 聖, 石田外樹, 根岸晃六 (1988) Cキナーゼの神経網膜における機能的意義—特にドーパミンの放出促進作用について, 神経化学 27: 30-31
20. Ishita, S., Negishi, K., Teranishi, T., Shimada, Y. and Kato, S. (1988) GABAergic inhibition on dopamine cells of the fish retina: a (<sup>3</sup>H)-dopamine release study with isolated cell fractions. J. Neurochem. 50: 1-6

21. Teranishi, T. and Negishi, K. (1988) Regional difference in the dendritic morphology of dopamine cells in carp retina. Dev. Brain Res. 39: 9-17
22. Negishi, K., Salas, R., Parthe, V. and Drujan, B. D. (1988) Identification of horizontal cells generating different spectral responses in the retina of a teleost fish (Eugerres plumieri). J. Neurosci. Res. 20: 246-256
23. Negishi, K., Teranishi, T., Kato, S. and Nakamura, Y. (1988) Immunohistochemical and autoradiographic studies on retinal regeneration in teleost fish. Neurosci. Res. Suppl. 8: S43-S57
24. Negishi, K., Kato, S. and Teranishi, T. (1988) Dopamine cells and rod bipolar cells contain protein kinase C-like immunoreactivity in some vertebrate retinas. Neurosci. Lett. 94: 247-252
25. Negishi, K., Kato, S. and Teranishi, T. (1989) The dopamine system in fish retina: histochemical, pharmacological and neurochemical approaches. In: Neurology and Neurobiolog, Vol. 49, Extracellular and Intracellular Messengers in the Vertebrate Retina (Eds. Redburn, D. A. & Pasantes-Morales, H.) Alan R. Liss, Inc., New York, pp. 207-228
26. Negishi, K., Teranishi, T. and Kato, S. (1989) The dopamine system of the teleost fish retina. In: Progress in Retinal Research, Vol. 9, Ed: N. Osborne & G. Chader, Oxford, Pergamon Press, pp. 1-48
27. Teranishi, T. and Negishi, K. (1989) Dendritic morphology of retinal dopamine cells in carp of different sizes. Dev. Brain Res. 47: 275-280
28. Negishi, K. and Teranishi, T. (1989) Dendritic morphology of a class of interstitial amacrine cells in carp retina. In: NATO ASI Series, Vol. H31, Neurobiology of the Inner Retina (Ed. R. Weiler and N. N. Osborne), Springer-Verlag, Berlin, pp. 133-143

29. Negishi, K., Kato, S. and Teranishi, T. (1989) Immunocytochemical localization of protein kinase C in some vertebrate retinas. In: NATO ASI Series, Vol. H31, Neurobiology of the Inner Retina (Ed. R. Weiler and N. N. Osborne), Springer-Verlag, Berlin, pp. 425-436
30. Kato, S., Negishi, K., Honma, K., Sakai, K. and Shimada, Y. (1989) A high performance liquid chromatography assay for glutamine synthetase. Neurochem. Int. 14: 491-496
31. Negishi, K. and Teranishi, T. (1990) Sequential course of uptake of intravitreal 5,7-dihydroxytryptamine by carp retinal cells. Brain Res. 508: 135-141
32. 根岸晃六 (1989) 網膜ドーパミン細胞の形態と機能. 金沢大学医学部神経精神医学教室八十年の歩み, 金沢大学医学部神経精神医学教室編, 田中昭文堂, 金沢: 37-48
33. Kato, S., Ishita, S., Mawatari, K., Matsukawa, T. and Negishi, K. (1990) Dopamine release via protein kinase C activation in the fish retina. J. Neurochem. (in press)
34. Kato, S., Sugawara, K., Matsukawa, T. and Negishi, K. (1990) Gliotoxic effects of  $\alpha$ -aminoadipic acid isomers on the carp retina: a long term observation. Neuroscience (in press)
35. Sugawara, K., Torigoe, K., Okoyama, S., Negishi, K. and Kato, S. (1990) Neurotoxic effects of L- $\alpha$ -aminoadipic acid on the carp retina: a long term observation. Neuroscience (in press)
36. Teranishi, T. and Negishi, K. (1990) Dendritic morphology of a class of interstitial and normally placed amacrine cells revealed by intracellular Lucifer yellow injection in carp retina. Vision Res. (in press)
37. Negishi, K., Stell, W. K. and Takasaki, Y. (1990) Early histogenesis of the teleostean retina: studies using a novel immunochemical marker, proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin). Dev. Brain Res. (in press)

38. Negishi, K., Teranishi, T., Karkhanis, A. and Stell, W. K. (1990) Emergence and development of immunoreactive cells in teleostean retinas during the perinatal period. Dev. Brain Res. (in press)
39. Negishi, K. and Teranishi, T. (1990) Close tip-to-tip contacts between dendrites of transient amacrine cells in carp retina. Neurosci. Lett. (accepted)
40. Negishi, K., Stell, W. K., Teranishi, T., Karkhanis, A., Owusu-Yaw, V. and Takasaki, Y. (1990) Induction of PCNA immunoreactive cells in goldfish retina following intravitreal injection with 6-OHDA. Cell. Molec. Neurobiol. (accepted)
41. 根岸晃六 (1990) 平成元年度文部省科学研究費補助金 (総合研究A) 「網膜における色情報抽出の神経機構: 基礎と臨床の接点を求めて」報告書 (研究課題番号 63304031)

e. 学会，班会議及びセミナー発表演題目録

1. 寺西經信. ルシファ・イエロー注入による鯉網膜モノアミン細胞の形態. 第18回藤田学園医学会, (豊明, 昭61, 10, 2-4) ; 藤田学園医誌 10(付) (1986) 49
2. 石田外樹, 加藤 聖, 根岸晃六. 鯉網膜ドーパミン細胞への $\gamma$ -アミノ酪酸抑制性入力について. 第33回生理学中部談話会 (松本, 昭61, 10, 13-14) ; 日本生理誌 48 (1986) 802
3. 根岸晃六, 寺西經信. 冷血脊椎動物網膜の免疫組織化学的研究. 第33回生理学中部談話会 (松本, 昭61, 10, 13-14) ; 日本生理誌 48 (1986) 789
4. Negishi, K., Teranishi, T. and Kato, S. Functional and morphological correlates of amacrine cells in the carp retina. International Symposium on "Retinal Processes" (Okazaki, Sept. 22-24, 1986); The 7th Internatl. Congr. Eye Reserach, Nagoya (Sept. 25-Oct. 1, 1986)
5. Kato, S., Ishita, S. and Negishi, K. GABAergic inhibition on dopamine cells of the fish retina. The 6th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Chiba, Apr. 1-3, 1987); J. Physiol. Soc. Jpn. 49 (1987) 450
6. Teranishi, T. and Negishi, K. Regional difference of dendritic morphology of dopamine cells in carp retina. The 64th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Chiba, Apr. 1-3, 1987) ; J. Physiol. Soc. Jpn. 49 (1987) 450
7. Negishi, K. and Teranishi, T. A comparative study of immunoreactive cells in cold-blooded vertebrate retinas. The 64th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Chiba, Apr. 1-3, 1987) ; J. Physiol. Soc. Jpn. 49 (1987) 458



8. Negishi, K. Cyclic AMP involvement in the dopaminergic circuit of fish retina. The Satellite Symposium on "External and Internal Messengers in the Vertebrate Retina" (IVIC, May 30-31, 1987) to The 11th ISN/18th ASN Meeting, LaGuaira (May 31-June 5, 1987)
9. Kato, S., Ishita, S. and Negishi, K. GABAergic cells in fish retina revealed by a transmitter release study. The 11th ISN/18th ASN Meeting (La Guaira, Venezuela, May 31-June 5, 1987) ; J. Neurochem. 48, Suppl. (1987) S97
10. Negishi, K., Teranishi, T. and Kato, S. The dopamine system in fish retina; histochemical, pharmacological and neurochemical approaches. The 11th ISN/18th ASN Meeting (La Guaira, Venezuela, May 31-June 5, 1987) ; J. Neurochem. 48, Suppl. (1987) S98
11. 石田外樹, 加藤 聖. 神経網膜におけるC-キナーゼの機能的意義—特に伝達物質の放出について. 第71回日本薬理学会近畿部会 (金沢, 昭62, 6, 13); 日薬理誌 90 (1987) 29p
12. 加藤 聖, 石田外樹, 根岸晃六. 網膜における抑制性 GABA 入力について—特に伝達物質の放出を指標として. 第71回日本薬理学会近畿部会 (金沢, 昭62, 6, 13) ; 日薬理誌 90 (1987) 30p
13. 寺西經信. 蛍光色素注入法による鯉網膜モノアミン細胞の形態. 昭62年度生理研研究会「分子生物学的手法の視覚研究への導入」(岡崎, 昭62, 7, 1-3)
14. 根岸晃六. 網膜のシナプス伝達・修飾物質 (特別講演). 第7回日本眼薬理学会 (東京, 昭62, 8, 1・2) ; プログラム・講演要旨集 (1987) 21
15. 加藤 聖, 根岸晃六. 網膜における可塑性. 文部省特定研究「神経回路網の可塑性」, 夏のワークショップ「感覚・運動系」(近江八幡市, 昭62, 8, 28-30)

16. 島田洋一, 秩父志行, 加藤 聖, 根岸晃六. 簡易カラー画像処理システムの開発と蛍光顕微鏡画像処理への応用. 昭和62年度電気関係学会北陸支部連合大会 (富山, 昭62, 10, 2・3)
17. 根岸晃六. 脊椎動物網膜における情報処理 (招待講演). 昭和62年度電気関係学会北陸支部連合大会 (富山, 昭62, 10, 2・3); 講演論文集 (1987) 219
18. Negishi, K. Retinal growth and regeneration in the teleost fish. The 10th Taniguchi Foundation Internatl. Symposium on Visual Science (Katata, Nov. 23-27, 1987)
19. 根岸晃六. 魚類網膜の成長と再生. 文部省特定研究「可塑性神経回路」, 第3 (津本) 班, 昭和62年度第2回班会議 (東京, 昭62, 12, 8).
20. 根岸晃六. 魚類網膜の成長と再生. 昭和62年度基生研研究会「細胞社会中の細胞行動」(岡崎, 昭63, 1, 25・26)
21. 根岸晃六. 冷血脊椎動物網膜の免疫組織化学的研究. 文部省総合研究 (A) 「新しい実験技術による光受容と視覚情報処理に関する研究」, 第2回班会議 (金子班), (大阪, 昭63, 1, 29)
22. 根岸晃六. 鯉網膜アマクリン細胞の形態と光応答. 第1回情報生物懇談会学術集会, シンポジウム「視覚研究の将来」(東京, 昭63, 2, 1)
23. Negishi, K. Correlations between horizontal cell morphology and spectral response in the retina of a teleost fish (Eugerres plumieri). The 13th Seiriken Conference on Ion Channels and Intracellular Regulatory Mechanisms (Okazaki, Feb. 23-24, 1988)
24. Negishi, K. Correlates between retinal horizontal cell morphology and spectral response type in a fish (mojarra, Eugerres plumieri). The 65th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Wakayama, Apr. 4-6, 1988); J. Physiol. Soc. Jpn. 50 (1988) 490

25. Teranishi, T. and Negishi, K. The dendritic coverage factor of dopamine cells during growth of carp retina. The 65th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Wakayama, Apr. 4-6, 1988); J. Physiol. Soc. Jpn. 50 (1988) 492
26. Sugawara, K., Kato, S. and Negishi, K. Glio- and neurotoxic effects of alpha-aminoadipic acid isomers in the carp retina. The 65th Ann. Meet. Physiol. Soc. Jpn. (Wakayama, Apr. 4-6, 1988); J. Physiol. Soc. Jpn. 50 (1988) 500
27. 鷲岳 宏, 外崎 昭, 渡辺 皓, 根岸晃六. キンギョ網膜水平細胞におけるギャップ結合の変動について. 第44回日本電顕学会 (仙台, 昭63, 6, 1-3); J. Electr. Micro. 37 (1988) 256
28. Negishi, K. The Dopamine System in the Teleost Fish Retina (Seminar)  
(1) Lions' Sight Center, Univ. Calgary Faculty of Med., Calgary (June 16, 1988)  
(2) Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Frankfurt (Aug. 15, 1988)  
(3) Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen (Aug. 17, 1988)
29. 菅原 清, 加藤 聖.  $\alpha$ -アミノアジピン酸: その網膜内の神経性並びにグリア細胞の機能・形態に及ぼす毒性作用について. 生理研研究会・文部省総合研究 (A) 班会議合同会 (岡崎・浜松, 昭63, 7, 13-15), 6
30. 鷲岳 宏, 外崎 昭, 渡辺 皓, 根岸晃六. 水平細胞間ギャップ結合の測定: ヤツメウナギとキンギョについて. 生理研研究会・文部省総合研究 (A) 班会議合同会 (岡崎・浜松, 昭63, 7, 13-15), 11
31. Negishi, K., Kato, S. and Teranishi, T. Protein kinase C-like immunoreactivity in dopamine cells and rod bipolar cells in some vertebrate retinas. NATO Advanced Research Workshop on "The Neurobiology of Inner Retina" (Org. R. Weiler & N. Osborne), (Oldenburg, West Germany, Aug. 8-12, 1988), 54

32. Negishi, K. and Teranishi, T. Dendritic morphology of a class of interstitial amacrine cells in carp retina. NATO Advanced Research Workshop on "The Neurobiology of Inner Retina" (Org. R. Weiler & N. Osborne), (Oldenburg, West Germany, Aug. 8-12, 1988)
33. Negishi, K., Teranishi, T. and Kato, S. Salas, R. and Drujan, B. D. Dopamine cells of fish retina; dendritic morphology and modulatory roles on horizontal cells. The 8th ICER Symp. on "Multiple Roles of Dopamine in the Retina" (Org. S. Yazulla & J. C. Besharse) (San Francisco, Sept. 3-8, 1988); Proc. Internatl. Soc. Eye Res. 4 (1988) 75
34. Negishi, K., Teranishi, T. Development of dopamine cells in the teleost fish retina. Internatl. Symp. on "Retinal Development and Regeneration" (Org. A. W. Spira) (Banff, Canada, Sept. 9-12, 1988), 13
35. Negishi, K. Analysis of Neuroblast Proliferation in Teleostean Retinas by Immunochemical Detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) (Seminar), Lions' Sight Center, Univ. Calgary Facult. Med., Calgary (Sept. 28, 1989)
36. 堀川浩平, 島田洋一, 角倉敏彦, 根岸晃六, 加藤 聖. 培養神経細胞の成長と分化—電気生理学的研究. 第35回生理学中部談話会 (芦原, 昭63, 9, 29-30); 日本生理誌 51 (1989) 19
37. 加藤 聖, 石田外樹, 根岸晃六. コイ網膜におけるプロテインキナーゼC系について. 第35回生理学中部談話会 (芦原, 昭63, 9, 29-30); 日本生理誌 51 (1989) 16
38. 根岸晃六. 網膜におけるドーパミンの役割 (特別講演). 第63年度金沢医科大学神経精神医学教室懇話会 (金沢, 昭63, 11, 27)

39. Negishi, K., Kato, S. and Teranishi, T. Immunohistochemical localization of protein kinase C in various vertebrate retina. The 12th Ann. Meet. Jpn. Neurosci. Soc. (Nagoya, Dec. 7-9, 1988); Neurosci. Res. Suppl. 9 (1989) S174
40. Teranishi, T. and Negishi, K. Dendritic morphology and photoresponse of interstitial amacrine cells in carp retina. The 66th Ann. Meet. Jpn. Soc. Physiol. Sci. (Okayama, Apr. 5-7, 1989); Jpn. J. Physiol. 39 (Suppl.) (1989) S159
41. 根岸晃六. 網膜ドーパミン細胞の形態と機能 (招待講演). 金沢大学医学部神経精神医学講座開講80周年記念講演会 (金沢, 平 1, 7, 2)
42. 根岸晃六. 鯉網膜細胞による 5,7-DHT 取り込みの経時的経過. 生理研 (視覚) 研究会—光情報系の学際的理解 (岡崎, 平 1, 8, 4-5), 抄録集 (1989) 28
43. Negishi, K., Teranishi, T., Stell, W. K., Karhanis, A. and Bremner, L. Studies of neuroblast proliferation in teleostean retinas by immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Internatl. Symp. on Fish Vision: A Multidisciplinary Approach to A Model System (Org. S. Vallerga) (Oristano, Sardinia, Aug. 27-31, 1989), Abstract 11
44. Negishi, K. and Teranishi, T. A paired class of interstitial and ordinary amacrine cells revealed by intracellular Lucifer yellow injection in carp retina. Internatl. Symp. on Fish Vision: A Multidisciplinary Approach to A Model System (Org. S. Vallerga) (Oristano, Sardinia, Aug. 27-31, 1989) Abstract, 32
45. 鷲岳 宏, 外崎 昭, 渡辺 皓, 根岸晃六. キンギョ網膜水平細胞におけるギャップ結合: 明暗順応および DA による変動. 第34回日本解剖学会東北・北海道地方会 (仙台, 平 1,10,15-16); 解剖誌 64 (1989) 66
46. 根岸晃六, 河崎一夫 (企画). 公開シンポジウム「網膜機能の細胞及び分子生物学的解析」, 文部省科学研究費補助, 総合研究 (A・B) 班主催 (金沢, 平 1,11,10・11)

47. 根岸晃六, 寺西經信. 魚類網膜再生の組織化学的研究. 第7回国際眼研究会議  
日本部会 (大阪, 平 1,12, 9・10), プログラム・講演要旨集(1989) 45

f. N I R I (伝達) セミナール演題目録 (第 43 ~ 49 回)

- Ian G. Morgan (Assoc. Prof., Dept. Behavioral Biology, RSBS, Australian National Univ., Canberra, Australia); Excitatory Amino Acid Pathways, Serotonergic and Cholinergic Cells of the Chick Retina (第43回; 昭61,10, 2)
- David I. Vaney (Asst. Prof., National Vision Research Institute of Australia, Carlton, Australia); Retinal Amacrine Cells and the Rod Signal Pathway (第43回; 昭61,10, 2)
- Pamela A. Raymond (Asst. Prof., Dept. of Anatomy, Univ. Michigan Sch. Med. Ann Arbor, USA); Retinal Regeneration in Goldfish: The Role of Rod Precursor Cells (第43回; 昭61,10, 2)
- Maureen K. Powers (Assoc. Prof., Dept. Psychology, Vanderbilt Univ., Nashville, USA); Retinal Development in Goldfish Studies of Visual Function (第43回; 昭61,10, 2)
- Author W. Spira (Prof., Dept. of Anatomy, Univ. of Calgary Faculty of Medicine, Calgary, Canada); The Effect of a Cholinergic Neurotoxin on Neurones of the Rabbit Retina (第44回; 昭61,10, 6)
- Neville N. Osborne (Prof., Laboratory of Ophthalmology, Oxford University, Oxford, England); The Serotonergic neurones of the Rabbit Retina in Recent Studies (第45回; 昭62,11,20)
- 丸山直滋 (新潟大, 脳研究所, 教授); 聴覚野における言語音の認知 (第46回; 昭63, 1,11)
- 伊藤博信 (日本医大, 解剖, 教授); 二つの視覚系と大脳新皮質・・・硬骨魚類を中心として (第47回; 昭63, 7, 4)
- Thomas a. Reh (Asst. Prof., Dept. of Medical Physiology, Univ. of Calgary Faculty of Medicine, Calgary); Regulation of Cellular Phenotype during Development and Regeneration of the Vertebrate Retina (第48回; 昭63,11,28)
- Nico M. van Gelder (Prof., Dept. of Physiol., Univ. of Montreal Faculty of Medicine, Montreal, Canada); Brain Taurine as a Function of Cerebral Metabolic Rate (第49回; 平 1, 7,17)

#### 4. 神経物性研究部門

##### a. 人事関係

昭和62年3月31日. 中村俊雄教授退官, 名誉教授号授与。

昭和63年2月1日. 東田陽博 (金沢大学助教授, がん研究所薬理部) 教授に昇任。

昭和63年4月1日. 横山 茂 (金沢大学大学院医学研究科) 助手に採用。

昭和63年4月1日. 浅野泉美技能補佐員に採用。

昭和63年4月1日～平成2年3月31日. 東田陽博教授岐阜大学・非常勤講師。

昭和63年4月1日～平成2年3月31日. 額田敏秀 (東京大学医学部), 小倉明彦 (三菱化成生命研究所), 古家喜四夫 (生理学研究所), 榎本浩一 (島根医科大学), 岡野幸雄 (岐阜大学医学部) 協力研究員に。

昭和63年5月24日～昭和63年6月1日. 東田陽博教授海外出張。第53回 Cold Spring Harbor Symposium 「分子神経生物学」 (ニューヨーク市) に出席発表。

昭和63年8月29日～平成元年3月31日. 鳥越甲順講師海外出張。ヨーロッパ電子顕微鏡学会に引き続きOxford 大学生理学教室に留学研究。

昭和63年10月25日～平成元年2月1日. 横山 茂助手京都大学医学部医化学教室研修。

平成元年2月1日. 明星康裕 (麻醉科大学院生) 専攻科目を神経物性に変更。

平成元年4月1日～平成2年3月31日. 東田陽博教授東京大学・名古屋大学非常勤講師。

平成元年4月18日～平成元年7月18日. 横山 茂助手京都大学医学部医化学教室研修。

平成元年4月16日. 鳥越甲順講師 (福井医科大学・解剖学) 助教授に昇任。

平成元年4月25日～5月25日. David A. Brown教授 (ロンドン大学医学部・薬理学講座・主任) 日本学術振興会外国人招聘研究者として金沢大学に滞在研究。

平成元年7月14日～7月25日. 東田陽博教授海外出張。第1回日ソ合同「受容体」シンポジウム (モスクワ市・ソ連) 出席発表。

平成元年10月29日～11月4日. 東田陽博教授海外出張。第19回アメリカ神経科学協会総会 (フェニックス市・アメリカ) 出席発表。

平成元年12月1日～12月9日. 東田陽博教授海外出張。ニューヨーク科学アカデミー「プレシナプス受容体」 (フィラデルフィア市・アメリカ) シンポジウムに出席発表。



平成2年2月19日．浅野泉美辞職。

平成2年2月19日～3月27日．東田陽博教授海外出張。ロンドン大学医学部・薬理学教室（ロンドン市・イギリス）にて滞在研究。

現教室関係者（平成2年4月1日現在）

教授	東田陽博	名古屋大学大学院，昭和50年修了，医博
助手	横山 茂	金沢大学大学院，昭和63年修了
助手	星 直人	金沢大医，平成2年卒
技術補佐員	野田百美	九州大薬，昭和54年卒，医博
技能補佐員	山下恵子	

大学院生	明星康裕	金沢医大，昭和60年卒
大学院生	木村康宏	金沢大医，平成元年卒
大学院生	川村哲朗	金沢大医，昭和63年卒（副科目）
大学院生	伊藤裕二	金沢大医，昭和63年卒（副科目）
ポストドクトラルフェロー	橋井美奈子	金沢大学大学院，昭和63年修了，医博

## b. 研究テーマと内容の解説

昭和63年2月1日より中村俊雄教授の後任として、東田教授が就任してからは、従来の組織学的研究を止め、分子生物学的手法による神経機能解明の研究へ軌道修正した。主に神経腫瘍培養細胞を用いて研究を行った。遺伝子工学等の手段により、クローン化（抽出）された神経伝達物質受容体や、イオンチャンネル分子を導入（トランスフェクト）したニューロblastoma細胞を創作した上で、その細胞のイオンチャンネル活動や、受容体刺激後のセカンドメッセンジャー物質（例えばイノシトール三リン酸）の動態を観察した。

### (A) 神経腫瘍培養方法の研究

#### ①神経腫瘍ニューロblastomaの培養方法の研究（東田）

ニューロblastomaは、1940年に米国 Main 州、ジャクソン研究所の A/Jマウス腹腔内に見つかった自発性の腫瘍で神経節原発と考えられ、組織学的に "round cell" が見られた。in vivo（マウス→マウス）の移植により維持され、1968年 tissue culture に移され、長い突起を持った、神経細胞様の形態が観察された。CAT（コリンアセチルトランスフェラーゼ、ACh をつくる酵素）や TH（タイロシンヒドロキシラーゼ、アドレナリンを合成するための第一の酵素）活性を持つことから、生化学的にも神経細胞様であることがわかり、以後神経細胞研究のモデルとしてしばしば使われるようになった。その当時 2~3ヶ所の研究所でクローニングが行われたが、NIH の Nirenberg 研究室で、Amano が、精力的、正確にクローニングし、以後、N18、N4、NS20 など現在世界中で使われる細胞が確立された。現在 Nirenberg研究室より分株された N18 や N1E-115 細胞を系統維持している。これらの細胞分裂による倍化時間（Doubling time）を計測したところ約 18時間であった。また、膜は興奮性を有していた。

#### ②NG108-15雑種細胞の培養方法の研究（東田、浅野）

マウスニューロblastoma N18細胞のヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシールトランスフェラーゼ欠損株細胞 N18TG-2と、ラットグリオーマC6細胞のチミジンキナーゼ欠損株細胞 C6Bu-1 をセンダイウイルスで融合したハイブリット細胞NG108-15細胞は、1970年頃に天野や Hamprecht により、米国 NIH の Nirenberg 研究室で作られた。この細胞は遺伝子構成上、テトラプロイドであり、そのためか、継代培養中その形質表現型は比較的安定している。神経機能を多く備えており、神経機能研究によく用いられている。なかでも受容体の研究には大変有用である。細胞増殖は、DMEM 液に HAT 液を加え、牛血清は 5%容量で充分と判断した。細胞の成育度は、加えた血清濃度に依存した。10%ウシ胎仔血清条件下の、NG108-15細胞の平均 2倍化時間は24時間であった。日本国内の他の研究室でこの細胞を維持しても、細胞の変質をきたしていることが多い。その原因はNG108-15細胞の場合は最終到達密度が低いたためまだ培養が続けられると、高密度状態で細胞を維持して失敗することが原因とわかった。

### ③NG108-15細胞の分化培養（東田、野田）

NG108-15細胞はあくまで 1個 1個独立の細胞として培養でき、良い条件下では短い突起を細胞体の周囲に持つ壁面に付着している細胞である。この状態に細胞分化を促す物質を「DMEM + H/T + 1% FCS」液に添加すると、増殖は抑制され細胞は大きくなり、長い突起を持つようになる。突起の長さは細胞体の数10倍にもなり、時には1 mmに達することもある。コラーゲンやポリオールニチンで塗布した皿に培養すると、細胞の壁面への付着は著しく増大し、特にポリオールニチンの場合は多くの分枝した突起の形成がみられることを発見した。さらに細胞培養中の血清濃度を低下させると同時に0.25 mM ジブチル cAMP、あるいは10  $\mu$ M プロスタグランジンと1 mM テオフィリンで形態的な分化はさらにすすんだ。

### ④NG108-15 細胞の神経機能発現の安定性の研究（東田、野田）

リガンド結合実験や、エフェクターの連絡等で調べられ、種々の受容体が NG108

-15細胞に存在することが知られている。NG108-15細胞は、アセチルコリンの他、セロトニン、ドーパミン、ブラジキニン、プロスタグランジン等に反応し、アデニレートシクラーゼ活性を上昇させたり低下させたり、イオンチャンネルをモジュレートしたりする。これらの反応はそれぞれの受容体の一つのサブタイプによりメディエイトされていると考えられている。しかも、エフェクターとカップルするこれらのNG108-15細胞は未分化な状態で数種類の受容体を発現している。

イオンチャンネルも同様で、この細胞に存在するが、それらは分化して発現してくる。6ヶ月以上の長期培養でも、アセチルコリン受容体反応や、 $Ca^{2+}$ 依存、非依存的  $K^+$  電流等に大きな変化は生じなかった。

#### ⑤ 遺伝子 (cDNA 及び DNA) 受注細胞としての NG108-15細胞の可能性の研究 (東田、横山)

NG108-15細胞は、すでに種々の神経機能を獲得している。この性質を利用し、遺伝子発現のレシピアント細胞としての使用が可能になってきている。というのは、ある遺伝子の機能が他のタンパク質分子とインターラクシオンして現れる場合はすでに多くの機能を有しており (システムとして出来上がっていて) 従って、それに付随する必要な機能を持つ細胞が有益となってくる。現時点では、必要な複数の遺伝子を同一細胞にトランスフェクトすることは難しい。言いかえると、あるシステムに含まれる遺伝子全部をトランスフェクションで導入することは不可能に近いから、既に機能を獲得しているが、目的とする遺伝子に関しては欠損しているという細胞が必要となる。NG108-15細胞のそういう利用の仕方として、数種の研究が可能である事を検討した。

#### (B) イノシトールリン脂質代謝産物による信号伝達機構の研究

受容体刺激によりよく知られているように、膜リン脂質代謝回転が上昇し、膜の微量構成成分であるホスファチジルイノシトール4、5-二リン酸のホスホジェステラーゼによる水解が生じる。そして、ジアシルグリセロール (DG) とイノシトール

ル 1、4、5-三リン酸 ( $IP_3$ ) が産成される。Berridge や Irvine により、 $IP_3$  が細胞内の非ミトコンドリア性  $Ca^{2+}$  貯蔵部位から  $Ca^{2+}$  を遊離させることが発見された。又、もう一つの反応生成物であるジアシルグリセロール (DG) は、神戸大学の高井や西塚等により C キナーゼを活性化することが示された。それぞれは間接的に細胞内でセカンドメッセンジャーとして働く。即ち、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇と蛋白質のリン酸化を伴い細胞反応を誘発する。この情報伝達変換機構は、いろいろの刺激に対して種々の細胞で生じる (従って、かなりユニバーサルな) 反応である。神経細胞におけるこれらセカンドメッセンジャーとしての作用を、ニューロブラストーマ・グリオーマ細胞の持つブラジキニン受容体反応で、より詳細に研究した。

#### ①ブラジキニン受容体反応の研究 (東田、D. A. Brown、矢野)

ブラジキニン投与により NG108-15 細胞の膜電位は最初過分極を生じ続いて脱分極する。過分極中には  $Na^+$  や  $Ca^{2+}$  スパイクは完全に抑制され (興奮性の低下)、脱分極中にはスパイク頻度が上昇 (興奮性上昇) する。この二相性変化の原因が膜電位固定法による電流やシングルチャンネル電流測定により明らかにした。過分極は、 $Ca^{2+}$  依存性  $K^+$  電流の増加、脱分極は膜電位依存性 M 電流の減少によることがわかった。

他方生化学的測定で、この細胞ではブラジキニン刺激直後、細胞膜リン脂質のうち、ホスファチジルイノシトール 4、5-ニリン酸画分中の  $^{32}P$  放射活性が減少する事がわかっている。そしてその水解産物である  $IP_3$  が増加した。この産生された  $IP_3$  により細胞内  $Ca$  濃度が、300 nM 程度に上昇した。この上昇が  $Ca^{2+}$  依存性  $K^+$  チャンネルを開く事をパッチクランプ法によるシングル  $K^+$  チャンネル記録法により確認した。(岐阜大学医学部・生化学教室との共同研究)

#### ② $Ca$ 依存性 $K^+$ チャンネルと $IP_3$ の研究 (東田、古家)

ニューロブラストーマ細胞には、少なくとも 3 種類以上の  $Ca$  依存性  $K^+$  チャンネルが存在している事がわかった。それらはそれぞれ 100、40、10 pS のユニットコンダクタンスを持っていた。パッチ野以外の細胞表面に存在するブラジキニン受容体

を刺激して、パッチ内の40pS  $K^+$  チャンネルの活性が記録できた。この事は、ブラジキニン受容体がセカンドメッセンジャーを使用してチャンネルを制御していることを示唆している。電流測定で、実証したと同様の条件下を使用し、細胞内に刺入したガラス管よりイオン通電により $IP_3$  注入を行った。その直後に、40pSのチャンネルの活性は上昇した。開くチャンネルの数及び開放確率の両方が上昇した。以上の結果を総合すると、神経腫瘍由来のNG108-15細胞では $IP_3$  の注入が過分極（電流測定では外向き電流）を生じ、それは細胞内 $Ca^{2+}$  注入で誘発される電流と同じ性質を持っていた。イノシトールの3位の炭素が、さらにリン酸化した $IP_4$  のは、細胞内に $Ca^{2+}$  を遊離させる能力は全くなく、従って神経腫瘍細胞内に注入しても膜電位（流）には何の変化も起きなかった。（生理学研究所との共同研究）

### ③M電流の研究（東田、D. A. Brown）

$IP_3$  と同時に産生するDGは、プロテインキナーゼC（PK-C）を活性化する。シナプス機能に対するPK-Cの作用について長い間明快な答えが得られなかった。Snyder研究室のBaraban等により、造腫瘍効果よりも炎症作用が強いホルボールジブチレート（PDBu）やジアセテート（PDAc）が、哺乳類神経細胞の活動電位に効果を持つ事が見い出され、その役割がはっきりしてきた。NG108-15細胞では、ホルボールジブチレートを細胞外に投与し、1～2分以内に内向き電流が記録できた事からDGの作用による事がわかった。期待通り、ホルボールジブチレートによる内向き流の時、ブラジキニンによったのと同様な内向き電流がみられ、同時に、M電流の抑制がみられた。従って、ホルボールジブチレートによる内向き電流がM電流の減少に起因していることは明確である。（ロンドン大学医学部薬理学教室との共同研究）

### ④M電流のないニューロプラストーマ細胞におけるブラジキニン受容体反応（東田、横山、星、岡野、野澤）

ニューロプラストーマとファイブロプラスト雑種NL308細胞へのブラジキニン投与は、ホスホイノシトール1、4、5三リン酸（ $InsP_3$ ）生成を約5倍高め、細胞内の $Ca^{2+}$  濃度を上昇させた。ブラジキニンは膜過分極を生じたが、M電流抑制によ

り生じるイオン透過減少を伴う脱分極は生じなかった。過分極は $\text{Ca}^{2+}$ 依存性  $\text{K}^+$  電流の活性化により生じ、それは、細胞内への $\text{InsP}_3$  注入によりミミック出来た事から、 $\text{InsP}_3/\text{Ca}^{2+}$  により情報が伝えられる事がわかった。一方、C-キナーゼ活性は正常であった。しかし、Mカリウム電流は、この細胞には存在しなかった。従って、ジアシルグリセロール/C-キナーゼ系による信号伝達が、Mチャンネルには伝わらず、その結果脱分極が生じないと推論された。

以上、PI代謝産物によるイオンチャンネル制御機構をM電流を欠くミュータント細胞で解析した。今後、NL308 細胞はMチャンネルそれ自身や、それを調節する生化学的機構解明に有用な細胞となるであろう。(岐阜大学医学部・生化学教室との共同研究)

#### ⑤NG108-15細胞によるシナプス形成：イノシトールリン酸依存性 $\text{Ca}^{2+}$ によるアセチルコリンの遊離促進(東田、明星、小倉)

ブラジキニン投与は、NG108-15細胞に一過性の過分極( $\text{Ca}^{2+}$ 依存性  $\text{K}^+$  電流)とそれに続く脱分極(M電流抑制)を生じる。同時に ACh の遊離を増加させ、筋線維のMEPPs の頻度を増加させる。BK が $\text{InsP}_3$  生成を高めることから、 $\text{InsP}_3$ による細胞内の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の上昇とACh の遊離の間に因果関係があるか否かを調査した。

ブラジキニン(BK)により促進されるアセチルコリンの遊離のメカニズムを、マウスニューロブラストーマとラットグリオマ雑種NG108-15細胞で調べた。BK は、NG108-15細胞の膜過分極中にアセチルコリン(ACh)を遊離し、シナプス反応(MEPPs)を生じた。しかし、 $\text{Ba}^{2+}$ を細胞外に添加し、過分極を抑制した後でも BK によるMEPPs発生がみられた。さらに、イノシトール三リン酸( $\text{InsP}_3$ )を細胞内に注入すると膜過分極を生じ、その期間中、MEPPsの頻度が増加した。しかし、 $\text{InsP}_3$ 注入後、NG108-15細胞に特徴的な過分極が生じなくても MEPPs が生じたことから、アセチルコリンの遊離が膜電位には依存しない事を確認した。そこで、Fura-2により、細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度を測定したところ、BKや $\text{InsP}_3$  注入により、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度は上昇し、膜過分極も記録できた。以上の結果は、NG108-15細胞からのアセチルコリンの遊離が細胞内の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇に起因している事を強く示唆している。(三菱生命化学研究所との共同研究)

(C) ニューロプラスターマ細胞による膜蛋白質遺伝子の発現解析 (東田、横山、星、橋井、福田、額田、沼)

Hagaらの方法で脳や心臓から精製したムスカリン性受容体タンパク質の部分アミノ酸配列をもとに合成したオリゴヌクレオチドプローベを用いてムスカリン性アセチルコリン受容体cDNA mAChR IとmAChR IIがそれぞれ世界で初めて京都大学・沼研究室でクローニングされた。それらの情報にもとづいてクロスハイブリダイゼーションを行う中で、構造のよく似ている遺伝子があってそれぞれm3、m4、m5、m6と名づけられた。m3、m4、m5 についてもアミノ酸の一次構造が明らかにされた。

今回、SV40のアーリープロモーターの下流にタンパク質をコードする全領域を含むGTPタンパク質cDNA やムスカリン性受容体cDNA、或は DNAをつないだ。その発現ベクターはネオマイシン耐性遺伝子がタンデム (連続して) につなげてある。ムスカリン性受容体遺伝子の場合は環状のまま、又、GTP 結合タンパク質遺伝子の場合はそれを制限酵素で一ヶ所切って直線化し、前者はいわゆるCaPo<sub>4</sub> 法で、後者はエレクトロポレーション法でトランスフェクションを行った。

cDNA や遺伝子から予想されるサイズの mRNA が合成されていたとしても、その mRNA をもとに機能を有するタンパク質を合成しているという保証はない。そこで次に、ノーザンブロットで陽性と判断された細胞クローンについて、ムスカリン性アセチルコリン受容体の場合は、それぞれトランスフォームした細胞の膜分画を用いムスカリン性受容体のアンタゴニストである [<sup>3</sup>H] QNB (キヌクリジニルベンジレート) の結合実験を行った。そして、 [<sup>3</sup>H] QNB の結合量にして、トランスフェクションしなかった細胞の示す結合量より、数倍多いものを選び、外来性の遺伝子にもとづくタンパク質を合成している細胞として次の機能測定の実験に供した。

パーマネントにトランスフォームされた細胞はもとの細胞と同じ様に扱え、培養できた。 [<sup>3</sup>H] ミオ・イノシトールでラベルした後、カルバミールコリンで刺激し、IP<sub>3</sub>、IP<sub>2</sub>、IP分画の放射活性を測定した。何もトランスフェクションしていない control のNG108-15細胞や mACh II、IVをトランスフェクションした細胞ではカルバコールを添加しても PI 代謝回転には何ら変化を来さなかった。一方、mACh I、IIIcDNA をトランスフェクトした細胞ではIP<sub>1</sub>、IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub> の産生増加が著明に見られた。膜電流測定でも同時に、mACh I と mACh IIIでトランスフォームした細胞でのみ



特徴的な外向き電流に続く内向き電流が記録できた。これらの結果は、それぞれサブタイプ間でホスホリパーゼCへのカップリング様式が異なっていることを示唆している。(京都大学医学部・医化学教室、東京大学医学部・脳研・脳生化学教室との共同研究)

#### (D) 膜電位依存性 $K^+$ チャンネルの分子構造と多様性 (横山、東田、川村、伊藤、井本、沼)

神経細胞や筋細胞には、多種多様な  $K^+$  チャンネルが存在し、細胞膜の興奮性を調節している。また、グリア細胞、リンパ球系細胞、膵臓 B細胞などにも、 $K^+$  チャンネルが存在し、その機能解明に向けて研究されている。これまで10以上の  $K^+$  チャンネルが報告されているが、それらの一部は重なっており的確に分類することは難しい。各々のタイプ自体が、性質の微妙に異なる多数のチャンネルの集団、即ちサブタイプからなっている。 $K^+$  チャンネルは、電気生理学的或は薬理的には良く研究されているにもかかわらず、生化学的には未知の部分が多い。その理由として、量的に非常に少ない膜蛋白であることと、精製のリガンドがないことが挙げられる。しかし、現在、ショウジョウバエの shaker 遺伝子のクローニングを端緒にして、この領域の研究は大きく進歩しつつある。shaker 遺伝子はA-チャンネルのコンポーネントをコードしているが、これに類似する遺伝子が高等動物のものも含めて次々とクローニングされ、その機能が調べられている。その結果、膜電位依存性  $K^+$  チャンネルに関しては、その多様性を分子レベルで理解することが可能になってきた。

我々は、神経腫瘍細胞株 NG108-15細胞を材料にして作製した cDNAライブラリーから MBK1の S4セグメントの周辺の塩基配列をもつ合成DNA プローブを用いて 2種類の  $K^+$  チャンネルの cDNA (NGK-1とNGK-2) を得た。NGK-1 は BK-2と同一の蛋白質をコードし、Xenopus 卵母細胞で遅延整流型の  $K^+$  チャンネルが発現した。又、NGK-2 はShaker、Shab に対してよりも、Shaw に対して最も相同性が高いものであった。NGK-2 を Xenopus 卵母細胞で発現させると、やはり遅延整流型であった。

現時点での主要な  $K^+$  チャンネルのコンポーネントのアミノ酸配列をもとにして

系統樹 (phylogenetic tree) も書ける。現時点で  $K^+$  チャンネルのファミリーは、NGK2/Shaw、RCK1・BK2/Shaker、drk1/Shab の3つのサブファミリーに分類できる。このサブファミリーは、ハエと脊椎動物が分かれる前にすでに分かれていたと考えられる。しかし残念ながら、各々のサブファミリーに機能的側面からの意義付けをすることは困難である。将来、未発表であるShalのアミノ酸配列や未知の  $K^+$  チャンネル遺伝子の情報が加わって、新しい考え方を提出出来るようになるかも知れない。(京都大学医学部・医化学教室との共同研究)

c. 科学研究費

昭和62年度

- 東田陽博： 松原三郎記念精神医学育成基金（50万円）  
「神経腫瘍細胞からのイノシトールリン酸（IP<sub>3</sub>）依存性アセチルコリン遊離」

昭和63年度

- 東田陽博（代表）： 文部省科学研究費補助（150万円）  
重点領域（2）神経回路網形成の分子機構（佐武班）  
「ニューロブラストーマ・グリオーマ雑種細胞によるシナプス形成・伝達機構」（課題番号63638507）
- 東田陽博（代表）： 文部省科学研究費補助（160万円）  
重点領域（2）トランスメンブレンコントロールの機序（遠藤班）  
「イノシトールリン脂質代謝産物によるK<sup>+</sup>チャンネルの制御機構」（課題番号63641510）
- 東田陽博（分担）： 文部省特定疾患（130万円）  
特定研究 脳の老化機構に関する分子細胞生物学的研究（朝長班）  
（課題番号63115029）
- 鳥越甲順（代表）： 文部省科学研究費補助（90万円）  
奨励研究A(2)  
「再生神経の進入経路についての再検討」  
（課題番号63771096）
- 横山 茂： 日本心臓財団研究奨励金（100万円）  
「心臓のKチャンネル遺伝子クローニング」

昭和63年度～平成元年度

東田陽博：生理学研究所共同研究（17万円+17万円）

「イノシトールリン酸（IP<sub>3</sub>）感受性K<sup>+</sup>チャンネルの解析

平成元年度

神経物性部門： 金沢大学医学部特別設備費（1億300万円）

「総合核酸検査解析システム」

東田陽博（分担）： 文部省科学研究費補助（350万円）

重点領域（1）脳の老化機構に関する分子細胞生物学的研究

「アルツハイマー病における伝達機構障害」

（課題番号01658006）

東田陽博（代表）： 文部省科学研究費補助（150万円+100万円）

重点領域（2）神経回路網形成の分子機構（佐武班）

「ニューロブラストーマ・グリオーマ雑種細胞によるシナプス形成・伝達機構」（課題番号01638508）

東田陽博（代表）： 文部省科学研究費補助（160万円+75万円）

重点領域（2）トランスメンブレンコントロールの機序（遠藤班）

「イノシトールリン脂質代謝産物によるK<sup>+</sup>チャンネルの制御機構」（課題番号01641512）

東田陽博（代表）： 文部省科学研究費補助（200万円）

重点領域（2）脳神経細胞におけるインパルス・シグナリングの分子機構（吉岡班）

「イノシトール三リン酸（IP<sub>3</sub>）のプレシナプス（伝達物質放出）作用」（課題番号01659507）

東田陽博（分担）： 厚生省精神・神経疾患研究委託費（65万円）

難治てんかんの病態と治療に関する研究

「イノシトールリン脂質代謝産物とシナプス機能」

（課題番号元指1-24）

東田陽博（分担）： ヒューマンサイエンス基礎研究事業助成金  
（100万円+50万円）

ライフサイエンスの基盤としてのバイオテクノロジーの開  
発

「(1) ニューロトロフィック・ファクター等の分離技術お  
よび機能の解析技術の開発」（課題番号1-1-2-A）

横山 茂： 松原三郎記念精神医学育成基金（50万円）

「神経細胞のKチャンネル遺伝子のクローニングと発現」

d. 発表論文目録

1. Torigoe, K. & Nakamura, T. (1987) Fine structure of myomyous junctions in the mouse skeletal muscles. Tissue Cell 19: 243-250.
2. Hashimoto, K., Tanii, H., Sakamoto, J., Hayashi, M., Kurosaka, Y. & Torigoe, K. (1987) Neurotoxicity of acryllamide. Seminars Toxicity Mech. 1: 109-116.
3. Brown, David, A. & Higashida, Haruhiro (1988) Voltage- and calcium-activated potassium-currents in mouse neuroblastoma x rat glioma hybrid cells. J. Physiol. 397: 149-165.
4. Brown, David, A. & Higashida, Haruhiro (1988) Membrane current responses of NG108-15 mouse neuroblastoma x rat glioma hybrid cells to bradykinin. J. Physiol. 397: 167-184.
5. Brown, David A. & Higashida, Haruhiro (1988) Inositol 1,4,5-trisphosphate and diacylglycerol mimic bradykinin effects on mouse neuroblastoma x rat glioma hybrid cell. J. Physiol. 397: 185-207.
6. Higashida, Haruhiro (1988) Acetylcholine release by bradykinin, inositol 1,4,5-trisphosphate and phorbol dibutyrate in rodent neuroblastoma cells. J. Physiol. 397: 209-222.
7. Brown, David. A., Higashida, Haruhiro, Adams, Paul, R. & Marrion, Neil, V. (1988) Postsynaptic signal transduction in neuroblastoma and ganglion cells: Receptor-mediated control of K-currents. NATO ASI Ser. H19. In Modulation of Synaptic Transmission and Plasticity in Nervous Systems. Ed. G. Hertting og H-C. Spatz, pp175-185. Springer-Verlag, Berlin.
8. Fukuda, Kazuhiko, Higashida, Haruhiro, Kubo, Tai, Maeda, Akito, Akiba, Isamu, Bujo, Hideaki, Mishina, Masayoshi, & Numa, Syousaku (1988) Selective coupling of muscarinic acetylcholine receptor subtypes with K<sup>+</sup> currents in NG108-15 cells. Nature 335: 355-358.

9. Higashida, Haruhiro & Brown, David, A (1988)  $Ca^{2+}$  -dependent  $K^+$  channels in neuroblastoma hybrid cells activated by intracellular inositol trisphosphate and extracellular bradykinin. FEBS Letters 238: 395-400.
10. Numa, Shousaku, Fukuda, Kazuhiko, Kubo, Tai, Maeda, Akito, Akiba, Isamu, Bujo, Hideaki, Nakai, Jun, Mishina, Masayoshi, & Higashida, Haruhiro (1988) Molecular basis of the functional heterogeneity of the muscarinic acetylcholine receptor. The Molecular Biology of Signal Transduction. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. 53: 295-301.
11. Brown, David, A., Higashida, Haruhiro, Adams, Paul, R., Marrion, Neil, V., & Smart, Thomas, G. (1988) Role of G-protein coupled PI system in signal transduction in vertebrate neurons: Experiments on neuroblastoma hybrid cells and ganglion cells. The Molecular Biology of Signal Transduction. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. 53: 375-384.
12. 東田陽博、大杉 武、榎本浩一、古家喜四夫 (1988)  $Ca^{2+}$ 依存性イオンコンダクタンス. 蛋白質、核酸、酵素 33: 2217-2227.
13. Torigoe, Kojun. (1988) Terminal sprouting in partially denervated muscle of the mouse: a scanning electron microscopic study. Journal of Neurocytology. 17: 563-571.
14. Yokoyama, Shigeru, Imoto, Keiji, Kawamura, Tetsuro, Higashida, Haruhiro, Iwabe, Naoyuki, Miyata, Takashi and Numa, Shosaku (1989) Potassium channels from NG108-15 neuroblastoma-glioma hybrid cells: Primary structure and functional expression from cDNA. FEBS Letters, 259: 37-42.
15. Fukuda, K., Kubo, T., Maeda, A., Akiba, I., Bujo, H., Nakai, J., Mishina, M., Higashida, H., Neher E., Marty A. and Numa, S. (1989) Selective effector coupling of muscarinic acetylcholine receptor subtypes. Trends Pharmacol. Sci. Suppl: 4-10.

16. Higashida, Haruhiro, Okano, Yukio, Hoshi, Naoto, Yada, Yukio, Yokoyama Shigeru, Asaga, Tomoya, Fu, Tai, Nozawa, Yoshinori (1990) Bradykinin induces inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent hyperpolarization in K<sup>+</sup> (M)-current deficient hybrid NL308 cells: A comparison with NG108-15 neuroblastoma x glioma hybrid cells. Glia 3: 1-12.
17. Ogura, Akihiko, Myojo, Yasuhiro and Higashida, Haruhiro (1990) Bradykinin-evoked acetylcholine release via inositol trisphosphate-dependent elevation in free calcium in neuroblastoma x glioma hybrid cells. J. Biol. Chem. 265: 3577-3584.
19. 東田陽博(1989) K<sup>+</sup> チャンネルの制御機構. 実験医学 7: 242-247.
20. 東田陽博(1989) イノシトールリン脂質代謝産物による膜イオンチャンネルの制御. 生物物理 29: 1-6.
21. 東田陽博(1989) 脳のシグナルトランダクションと記憶. 蛋白質、核酸、酵素 34: 814-816.
22. 東田陽博、横山 茂、川村哲朗、伊藤裕二、額田敏秀 (1989) ニューロブラストーマ細胞による膜受容体遺伝子の発現解析. 日本臨床 47: 2293-2298.
23. Higashida, Haruhiro, Brown, David, A., Ogura, Akihiko, Sagara, Junichi, Nagata, Kazuhiro (1989) Modulation of two K<sup>+</sup> currents by inositol trisphosphate and protein kinase C. In Brain Signal Transduction and Memory. Ed: M. Ito, Y. Nishizuka pp117-128, Academic Press.
24. Ito Yuji, Miyamori Isamu, Matsubara Takao, Takeda Ryoyu, Higashida Haruhiro (1990) Cromakalim, a vasodialator, differentially inhibits Ca<sup>2+</sup> currents in NG108-15 neuroblastoma x glioma hybrid cells. FEBS Letters. 262: 313-316.



e. 学会及びセミナー発表題目録

1. 東田陽博; NG108-15ニューロblastoma雑種細胞におけるイノシトール1、4、5三リン酸により誘発されるアセチルコリン遊離  
第61回日本薬理学総会（福岡）（1988. 3.）
2. 東田陽博; セカンドメッセンジャーによる膜興奮性変調（Neuromodulation by second messengers）  
脳の医学・生物学懇話会（名古屋）（1988. 5.23）
3. D. A. Brown, H. Higashida, P. R. Adams, N. V. Marrion & T. G. Smart;  
Role of G-protein coupled PI system in signal transduction in vertebrate neurons: Experiments on neuroblastoma hybrid cells and ganglion cells. 第53回 Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. （ニューヨーク）（1988. 5.23）
4. S. Numa, K. Fukuda, T. Kubo, A. Maeda, I. Akiba, H. Bujo, J. Nakai, M. Mishina & H. Higashida; Molecular basis of the functional heterogeneity of the muscarinic acetylcholine receptor  
第53回 Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. （ニューヨーク）（1988. 5.23）
5. H. Higashida & D. A. Brown;  $Ca^{2+}$  dependent  $K^{+}$  channels activated by bradykinin or inositol trisphosphate and their modification by phorbol esters. 第6回国際内分泌学会サテライトシンポジウム（名古屋）（1988. 7.17）
6. Y. Okano, Y. Yada, T. Asaga, H. Higashida, T. Fu, K. Yano & Y. Nozawa;  
Agonist-induced hyperpolarization is mediated by phosphoinositide hydrolysis in two neuroblastoma-derived cell lines.  
第6回国際内分泌学会サテライトシンポジウム（名古屋）（1988. 7.17）
7. 東田陽博; Modulation of  $K^{+}$  currents by second messengers  
第239回金沢大学神経学研究会（金沢）（1988. 7.20）

8. 東田陽博, 明星康裕; NG108-15細胞のM電流  
第35回生理学中部談話会 (福井) (1988. 9.29)
9. 福田和彦, 東田陽博, 久保 泰, 前田明人, 秋葉 勇, 武城秀明, 三品昌美,  
沼 正作; NG108-15細胞におけるムスカリン性アセチル  
コリン受容体サブタイプとK<sup>+</sup>電流の選択的共役  
第61回日本生化学大会 (東京) (1988.10. 3)
10. 岡野幸雄, 矢田幸博, 東田陽博, 傳涛, 野澤義則; 神経芽種細胞のイノシト  
ール三リン酸産生と膜電気応答  
第61回日本生化学大会 (東京) (1988.10. 3)
11. 東田陽博; P I 代謝産物で制御されるK<sup>+</sup>電流  
生物物理学会・情報生物学懇談会 (名古屋) (1988.10.11)
12. 東田陽博, 星 直人, 横山 茂, 岡野幸雄, 野澤義則: M電流のないニューロ  
ブラストーマ細胞ではブラジキニン刺激はイノシトール三リン酸依存  
性過分極を生じる 第31回日本神経化学会 (仙台) (1988.10.25)
13. H. Higashida, K. Furuya & D. A. Brown; K<sup>+</sup> channels evoked by  
bradykinin and inositol-1,4,5-trisphosphate in NG108-15  
neuronal cells. 18th Ann. Meet. Society for Neuroscience  
(トロント) (1988.11.13)
14. 東田陽博, D. A. Brown; P I 代謝とシナプス機構  
第41回細胞生物学会シンポジウム「各種細胞における情報伝達機構の  
共通性と特異性について考える」 (座長) (名古屋) (1988.11.17)
15. H. Higashida, D. A. Brown, A. Ogura, J. Sagara & K. Nagata;  
Modulation of two K currents by inositol trisphosphate and  
protein kinase C. Takeda Science Foundation Symposium on  
Bioscience (京都) (1988.11.27)
16. 東田陽博; イノシトールリン酸脂質代謝産物による膜電流制御  
第12回神経科学学術集会シンポジウム「シナプス機能とイノシトール  
リン脂質代謝」 (座長) (名古屋) (1988.12. 8)

17. 東田陽博；イノシトールリン脂質代謝産物で制御されるイオンチャンネル  
第1122回最新医学教育講座「細胞内情報伝達機構の解明」  
(東京) (1988.12.11)
18. 東田陽博；興奮性膜のK<sup>+</sup>チャンネル ハイパーテンション アベント  
(金沢) (1988.12.22)
19. 東田陽博；イノシトールリン脂質代謝とK<sup>+</sup>チャンネル  
富山医科薬科大学大学院セミナー (富山) (1989. 1.10)
20. 東田陽博；NG 108-15細胞によるシナプス形成  
松原三郎記念基金発表会 (金沢) (1989. 3. 2)
21. 東田陽博；神経生物学 岐阜大学医学部特別講義 (岐阜) (1989. 3. 6)
22. 東田陽博；アフリカツメガエルでの発現系  
金沢大学遺伝子研究施設セミナー (金沢) (1989. 3.11)
23. 東田陽博；イノシトールリン脂質とイオンチャンネル  
第24回脳のシンポジウム (金沢) (1989. 3.17)
24. 東田陽博；イノシトールリン脂質とイオンチャンネル  
生理学会ディナーパーティ講演 (岡山) (1989. 4. 6)
25. 東田陽博；NG 108-15細胞・記憶研究のシステム  
金沢大学医学部十全同窓会総会講演 (金沢) (1989. 6. 4)
26. 東田陽博；イノシトールリン脂質とイオンチャンネル  
東京大学医科学研究所・大学院セミナー (東京) (1989. 6. 5)
27. 東田陽博；イノシトールリン脂質とイオンチャンネル  
神奈川歯科大学講演 (神奈川) (1989. 6.20)
28. 東田陽博；イノシトールリン脂質代謝とイオンチャンネル  
ヒューマンサイエンス・ツムラ分子研究所セミナー  
(東京) (1989.7. 7)
29. 東田陽博；Inositol 1,4,5-trisphosphate and diacylglycerol control two  
K-currents in neuroblastoma hybrid cells.  
第1回日ソ合同シンポジウム (モスクワ) (1989. 7.14)

30. 明星康裕、東田陽博、小倉明彦；NG108-15細胞によるシナプス形成：  
イノシトールリン酸依存性Ca<sup>2+</sup>によるアセチルコリンの遊離促進  
第32回日本神経化学会（札幌）（1989. 9.27）
31. 東田陽博；イオンチャンネルの制御機構  
第32回日本神経化学会・グループディナーカンファレンス  
「イオンチャンネルの制御機構」（座長）（札幌）（1989. 9.27）
32. 東田陽博；Polyphosphatidylinositide metabolites and synaptic function.  
医学・生物科学シンポジウム（熊本）（1989.10. 6）
33. Y. Ito, I. Miyamori, T. Mastubara, R. Takeda & H. Higashida； Effects  
of a new vasodilator cromakalim on potassium current  
Cardiovascular Drugs and Therapy Symposium（京都）  
（1989. 10.15-19）
34. H. Higashida, Y. Myojo & A. Ogura； Bradykinin-evoked acetylcholine  
release via inositol trisphosphate-dependent calcium rise.  
19th Annual Meeting of Society for Neuroscience  
（フェニックス）（1989.10.31）
35. 岡野幸雄、東田陽博、Fu Tai、坂井隆之、野澤義則；神経芽細胞腫雑種細胞  
（NCB-20）におけるIP<sub>3</sub>産生とK<sup>+</sup>チャンネル応答  
第62回日本生化学大会（京都）（1989. 11. 3-6）
36. 三品昌美、井本敬二、福田和彦、久保 泰、武城英明、前田明人、秋葉 勇、  
今野 卓、中井淳一、森 泰生、C. Busch、B. Sakmann、東田陽博、  
沼 正作；ニコチン性およびムスカリン性アセチルコリン受容体  
の構造と機能。 第62回日本生化学大会シンポジウム  
（京都）（1989. 11. 3-6）
37. H. Higashida & A. Ogura； Bradykinin-evoked acetylcholine release via  
inositol trisphosphate-dependent calcium rise.  
New York Academy Symposium（フィラデルフィア）  
（1989.12. 5）

38. H. Higashida; Cloning and expression of voltage-dependent K<sup>+</sup> channel genes in NG108-15 cells. Sandoz Research Institute Seminar (ロンドン) (1990. 3. 6)

f. 神経情報物性部門主催特別セミナー・特別講義

1. L. K. Kaczmarek; K<sup>+</sup> channel cloning  
特別セミナー (金沢) (1988.12. 2)
2. David A. Brown; ムスカリン性神経伝達のメカニズム  
神経科学特別セミナー (金沢) (1989. 4.26)
3. David A. Brown; M-currents- their regulation mechanism  
金沢大学医学部薬理学特別講義 (金沢) (1989. 5.11)
4. David A. Brown; M-currents- their regulation mechanism  
金沢大学医学部薬理学特別講義 (金沢) (1989. 5.18)
5. 久野 宗; 神経筋接合部の疾患の病態生理学  
金沢大学医学部生理学第一特別講義 (金沢) (1989. 6.12)
6. 久野 宗; mRNAのツメガエル卵母細胞内注入によるタヒキニン受容体の発現  
金沢大学医学部特別講義 (金沢) (1989. 6.12)

5. 金沢大学神経学研究会演題目録 (第 222 ~ 245 回)

- 近藤尚武 (第1解剖); いくつかの新しい形態学的アプローチ (第 222 回;  
昭62, 1, 28)
- 仲里博彦 (眼科); 先天性赤緑色覚異常の電気生理学的・他覚的診断 (第 223 回;  
昭62, 2, 25)
- 東間正人 (生理学第二); 脳切片におけるてんかん研究—in vitro キンドリング実  
験 (第 224 回; 昭62, 3, 25)
- 和田有司 (神経精神医学); 視覚系でのてんかん発作と光過敏性—キンドリングを用  
いた実験的研究 (第 224 回; 昭62, 3, 25)
- 本田敬宣 (整形外科); 末梢神経の熱損傷 (第 225 回; 昭62, 4, 22)
- 鳥越甲順 (神情研, 物性); 末梢神経の伸展過程について—motor nerve sprouting  
をめぐって (第 225 回; 昭62, 4, 22)
- 岩間吉也 (大阪大, 名誉教授, 近畿大, 生理, 教授); 機能局在説の成立ち  
(第 226 回; 昭62, 5, 6)
- 谷井秀治 (衛生学); アクリルアミドと関連誘導体の神経毒性 (第 227 回;  
昭62, 5, 27)
- 中林 肇 (内科学第二); 肝における血中ソマトスタチンの神経性感受性機構  
(第 228 回; 昭62, 2, 24)
- 坂戸俊一 (神経内科学); 中枢神経系における神経栄養因子 (第 229 回;  
昭62, 9, 30)
- J. B. Cavanagh (MRC 中毒学研究所客員教授); 神経中毒病理学 (第 230 回;  
昭62, 10, 30)
- 工藤 基 (解剖学第三); 聴覚脳の進化—比較解剖学的研究 (第 231 回;  
昭62, 11, 25)
- 松田 博 (核医学); 脳血流シンチグラフィの基礎および臨床 (第 232 回;  
昭62, 12, 23)
- 大村 裕 (九州大, 医, 生理, 教授); 摂食行動の神経化学的因子 (第 233 回;  
昭63, 1, 12)

- 坂口卓也 (生理学第二); 青斑核ノルアドレナリン・ニューロンの発達と可塑性  
(第 234 回; 昭63, 3,23)
- 石瀬 淳 (脳神経外科学); Waller 変性: Freeze-Fracture (凍結切断法) でみた  
Ravner Node の変化 (第 235 回; 昭63, 4,27)
- 郭 哲輝 (がん研, 薬理); 視細胞に特異的な新しい cDNA のクローニングとその  
蛋白質の機能的役割の解析 (第 236 回; 昭63, 5,25)
- 上出文博 (耳鼻咽喉科学); 嗅覚障害の診断と治療 (第 237 回; 昭63, 6,29)
- Jack A. Boulant (Prof., Dept. Physiol., Ohio State Univ., Ohio, USA);  
Hypothalamic Neurons involved in Thermoregulation and Homeostasis  
(第 238 回; 昭63, 7,20)
- 東田陽博 (神情研, 物性); Modulation of K<sup>+</sup> Currents by Second Messengers  
(第 238 回; 昭63, 7,20)
- 伊藤和夫 (京都大, 医, 解剖, 助教授); 視覚系の皮質下核におけるペプチドニュー  
ーロンの存在 (第 239 回; 昭63,10, 3)
- 山本健一 (東京都精神研); カルバコールによる逆説睡眠誘発の機序 (第 240 回;  
平 1, 1,20)
- 外崎 昭 (山形大, 医, 解剖, 教授); 光受容膜の更新過程における機能性領域の変  
化 (第 241 回; 平 1, 3, 4)
- 能登谷晶子 (耳鼻咽喉科学); 漢字失読の神経機構 (第 242 回; 平 1, 6,29)
- 光本素秀 (北陸大, 薬, 創薬研); Flow Cytometry の神経生物学への応用  
(第 243 回; 平 1,11,22)
- 横田敏勝 (滋賀医大, 生理, 教授); 視床腹側基底核群の痛覚ニューロン  
(第 244 回; 平 2, 1,26)
- 細野隆次 (生化学第二); 変異によりアセチルコリンの異常蓄積をもたらす遺伝子  
(第 245 回; 平 2, 2,28)